



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Pediatria

Osteopenia da prematuridade

Joana De Beir Oliveira

DEZEMBRO'2018



TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Pediatria

Osteopenia da prematuridade

Joana De Beir Oliveira

Orientado por:

Margarida Abrantes

DEZEMBRO'2018

RESUMO

A osteopenia é uma das comorbilidades inerentes à prematuridade, consistindo na diminuição da massa óssea total associada a disrupção do metabolismo mineral. Surge frequentemente 6 a 16 semanas após o nascimento e permanece assintomática na grande maioria dos casos.

Existem múltiplos fatores que aumentam o risco de desenvolver esta doença, como por exemplo insuficiência placentária, diminuição da idade gestacional e do peso à nascença, restrição de fluidos, imobilização e certos fármacos. No entanto, o principal fator etiológico são as reservas ósseas reduzidas de fósforo e/ou cálcio.

Apesar de não haver normas de orientação clínica universais relativamente ao diagnóstico, este baseia-se atualmente na evidência bioquímica de hipofosfatémia e hiperfosfatásia e evidência radiológica de osteopenia e/ou fratura. Poderíamos optar por um algoritmo diagnóstico mais complexo e abrangente, tendo também em consideração características clínicas e hormonais e outros parâmetros bioquímicos e ferramentas imagiológicas.

Esta é uma doença autolimitada, mas com consequências a curto e a longo prazo que devem ser evitadas. Para tal, é essencial a prevenção, proporcionando o aporte de cálcio, fósforo e vitamina D adequado para promover o crescimento ósseo normal, preferivelmente por via entérica através de fórmulas pré-termo ou leite humano fortificado. A estratégia de tratamento é semelhante.

O trabalho final exprime a opinião do autor e não da FML.

PALAVRAS-CHAVE:

Osteopenia, metabolismo ósseo, prematuridade, fósforo, cálcio

ABSTRACT

Osteopenia is one of the inherent comorbidities of prematurity, consisting of a decrease in the total bone mass associated with the disruption of mineral metabolism. It often appears 6 to 16 weeks after birth and remains asymptomatic in the vast majority of the cases.

There are multiple factors that increase the risk of developing this disease, such as placental insufficiency, reduction in gestational period, very low birth weight, fluid restriction, immobilization and certain drugs. However, the main etiological factor are the reduced bone stores of phosphorus and/or calcium.

Although there are no universal guidelines for diagnosis, this is currently based on biochemical evidence of hypophosphatemia and hyperphosphatasia and radiological evidence of osteopenia and/or fracture. We could opt for a more complex and overarching diagnostic algorithm, also considering the clinical and hormonal characteristics and other biochemical parameters and imaging tools.

This is a self-limiting disease, but with short- and long-term consequences that must be avoided. To this end, prevention is essential, providing adequate calcium, phosphorus and vitamin D supply to promote normal bone growth, preferably enterally using preterm formulas or fortified human milk. The treatment strategy is similar.

The final work expresses the opinion of the author and not of the FML.

KEYWORDS:

Osteopenia, bone metabolism, prematurity, phosphorus, calcium

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS

1,25(OH) ₂ D	Calcitriol
DEXA	Absorciometria de dupla energia radiológica
ECF	Líquido Extracelular
FA	Fosfatase Alcalina
PTH	Hormona Paratiroideia
PTHrP	Péptido relacionado com a Hormona Paratiroideia

ÍNDICE

Introdução	7
Definição	10
Incidência.....	10
Etiologia	11
Fatores de risco	12
Diagnóstico	14
Prevenção.....	19
Tratamento.....	23
Prognóstico	24
Conclusão	25
Agradecimentos	27
Bibliografia.....	28

INTRODUÇÃO

Os avanços nos cuidados intensivos neonatais têm permitido uma diminuição do limiar da viabilidade, com uma taxa de sobrevivência fora do ambiente uterino de 70% entre as 24 e 26 semanas de gestação. Isto significa que há um grupo crescente de crianças em risco de múltiplas comorbilidades neonatais, incluindo a osteopenia da prematuridade. (1,2)

O objetivo desta revisão da literatura é caracterizar esta doença abordando os seguintes temas: definição, incidência, etiologia, fatores de risco, métodos de diagnóstico, prevenção, tratamento e prognóstico.

Para tal, é fundamental começarmos por compreender o metabolismo ósseo fetal e neonatal, os seus principais intervenientes e as ações de cada um deles.

Metabolismo ósseo fetal

A formação do esqueleto endocondral começa logo no estadio embrionário e, entre a 8ª e a 12ª semanas de gestação, os centros de ossificação primária formam as vértebras e o esqueleto apendicular. Contudo, a maior parte da mineralização óssea só ocorre no 3º trimestre de gestação, com 80% do cálcio e do fósforo a serem depositados durante este período. (3–5)

O principal órgão responsável pelo controlo da homeostasia mineral no feto é a placenta, que transporta ativamente os minerais da circulação materna para a circulação fetal, mesmo em circunstâncias de baixas concentrações maternas causadas, por exemplo, por restrição dietética grave ou défice de vitamina D. (3,6,7)

Nesta fase, os rins e os intestinos são relativamente pouco importantes. Aliás, qualquer mineral que seja excretado pelo rim fetal não é verdadeiramente desperdiçado, já que a urina do feto forma grande parte do líquido amniótico que vai ser engolido, absorvido e, desta forma, reciclado. (3)

Geralmente, as concentrações séricas minerais no feto são mais altas que os valores normais dos adultos e da mãe, o que é essencial para a mineralização e desenvolvimento completos do esqueleto fetal. (3,6,7)

Estas concentrações séricas elevadas de cálcio suprimem as glândulas paratiroides do feto e assim a secreção de hormona paratiroideia (PTH). Como a PTH materna não atravessa a placenta, os valores fetais desta hormona mantêm-se muito

baixos. Contudo, a sua bioatividade está aumentada graças às altas concentrações circulantes do péptido relacionado com a hormona paratiroideia (PTHrP), um péptido produzido na placenta que mimetiza muitas das ações terminais da PTH, estimulando quer a reabsorção do esqueleto fetal, quer a atividade da bomba de cálcio existente na placenta. (3,6,7)

A PTH e, sobretudo, o PTHrP desempenham um papel crucial no desenvolvimento ósseo fetal e na regulação mineral sérica, ao contrário do que acontece com o calcitriol, a calcitonina ou o fator de crescimento dos fibroblastos 23 que não são necessários para estimular o transporte placentário de fósforo e de cálcio. (3,4,7)

Relativamente à vitamina D, só a sua forma precursora/inativada, 25-OH-vitamina D, atravessa a placenta a partir da mãe. A enzima 1α -hidroxilase, existente na placenta, nos rins fetais e responsável pela conversão final em calcitriol, está inibida. Simultaneamente, a enzima 24-hidroxilase da placenta apresenta alta atividade, convertendo a 25-OH-vitamina D em 24,25-OH-vitamina D, uma forma que já não pode ser convertida em 1,25-OH vitamina D, ou seja, em calcitriol. Por isso, as suas concentrações séricas fetais são baixas. (3,7)

Já a calcitonina, sintetizada quer na placenta, quer na tiróide fetal, circula no feto em concentrações cerca de 2 vezes superiores aos níveis maternos. (3,7)

No geral, a circulação fetal tem altos níveis de cálcio, fósforo, magnésio, calcitonina e PTHrP e baixas concentrações de PTH e calcitriol, sendo o equilíbrio existente entre todas estas hormonas, vitaminas e citocinas aquilo que permite o desenvolvimento ósseo fetal adequado. (3,4)

Metabolismo ósseo neonatal

Quando o cordão umbilical é cortado e se dá a primeira respiração, ocorre uma mudança rápida na forma como o metabolismo mineral é regulado. A transferência placentária de cálcio e de fósforo perde-se de forma abrupta, e assim os intestinos tornam-se a principal fonte de minerais do recém-nascido. A remodelação óssea torna-se mais importante e os rins começam a reabsorver minerais. Tudo isto para tentar manter as concentrações minerais séricas em níveis normais. (3)

Durante as primeiras 24 a 48 horas de vida, o cálcio diminui e o fósforo aumenta, representando um estado de hipoparatiroidismo fisiológico e transitório do recém-nascido, até que as glândulas paratiroideias se tornem completamente ativas. Por volta das 48 horas após o nascimento, a PTH atinge os seus valores mais elevados,

provocando globalmente um aumento do cálcio e uma diminuição do fósforo para valores considerados normais no adulto. (1,3,7)

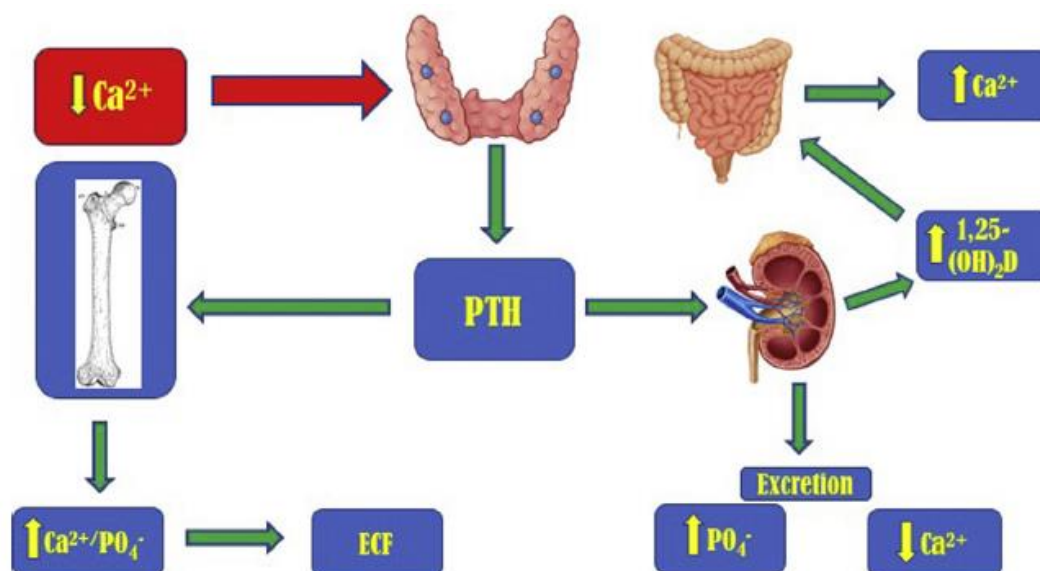


Figura 1 - Resposta das glândulas paratiroideias do recém-nascido à hipocalcemia pós-natal, com aumento da produção e secreção de PTH. Os níveis crescentes desta hormona promovem: no osso, a reabsorção de cálcio e de fósforo para o líquido extracelular (ECF); no rim, um aumento da reabsorção tubular de cálcio, uma menor reabsorção de fósforo e ainda uma maior ativação do calcitriol ou 1,25(OH)₂D que irá por sua vez estimular a absorção intestinal de cálcio. (7)

A absorção intestinal de cálcio ocorre inicialmente, e em grande escala, através de difusão passiva, não saturável e não dependente de calcitriol. À medida que os níveis da vitamina D aumentam, por estimulação da PTH, o transporte ativo e dependente de calcitriol torna-se o mecanismo dominante de absorção intestinal de cálcio, aproximadamente às 3 semanas de vida. (3,8)

Já a calcitonina começa por aumentar durante as primeiras 48 horas após o nascimento até 10 vezes mais do que os níveis do cordão umbilical, diminuindo depois gradualmente para valores muito mais baixos, tipicamente encontrados nos adultos. Este surto pós-natal de calcitonina serve para modular a reabsorção de cálcio induzida pelos níveis crescentes de PTH depois do nascimento. (3,7)

Toda esta regulação da homeostasia mineral no recém-nascido representa um estado de transição entre a fisiologia do feto, no qual a placenta domina a entrega e remoção de minerais, e a fisiologia do adulto, no qual as hormonas calciotrópicas e a vitamina D coordenam as alterações de cálcio e de fósforo através dos intestinos, rins e ossos. (3,7)

DEFINIÇÃO

A osteopenia da prematuridade, também conhecida como doença óssea metabólica ou raquitismo bioquímico da prematuridade, consiste numa diminuição da massa óssea total (matriz orgânica/osteóide e matriz inorgânica/mineral) dos recém-nascidos prematuros. É uma comorbilidade importante da prematuridade (nascimento antes das 37 semanas de gestação) caracterizada por uma sequência de eventos que começa com evidência bioquímica de ruptura do metabolismo mineral, com mineralização óssea reduzida e que resulta numa remodelação óssea anormal e velocidade de crescimento linear reduzida. (9–11) Surge frequentemente 6 a 16 semanas depois do nascimento, podendo permanecer silenciosa e oculta ou manifestar-se como raquitismo evidente com múltiplas fraturas, quando a desmineralização óssea é marcada. (4,12)

INCIDÊNCIA

Há duas décadas atrás estimava-se uma incidência da osteopenia da prematuridade de 50% nos bebês com extremo baixo peso à nascença (<1000g) e de 23-32% nos bebês com muito baixo peso à nascença (<1500g). (1,13)

Contudo, a incidência atual da doença é difícil de estimar. Se por um lado as mudanças na estratégia nutricional, com a utilização precoce de fontes dietéticas de alto conteúdo mineral, parecem fazer diminuir a incidência. Por outro lado, os avanços nos cuidados intensivos neonatais das últimas décadas têm possibilitado um aumento da sobrevivência de bebês prematuros e uma diminuição do limiar de viabilidade, resultando isto num crescente grupo de crianças em risco de múltiplas comorbilidades neonatais, de que é exemplo a osteopenia da prematuridade. (1,2,7,13)

De realçar que a incidência parece ser superior em prematuros que amamentam (40%) comparativamente a prematuros alimentados com fórmulas pré-termo (16%). (1,12)

ETIOLOGIA

A osteopenia da prematuridade é considerada uma doença multifatorial, contudo ocorre comumente como resultado de reservas ósseas de cálcio e de fósforo significativamente reduzidas nos bebês prematuros. (4,9,10,14,15) Isto acontece porque a acreção máxima destes minerais se dá no 3º trimestre de gestação, e os bebês que nascem prematuros não alcançam as reservas adequadas, o que é agravado pela dificuldade que há em mimetizar o que ocorre *in utero* através da alimentação entérica e parentérica. (1,4,8,12,16)

Constata-se que o déficit de fósforo é o que tem maior impacto no desenvolvimento da doença, seguido do déficit de cálcio e posteriormente de vitamina D. (1)

A hipofosfatemia, acompanhada frequentemente de um aumento da fosfatase alcalina (hiperfosfatásia), é um dos principais mecanismos subjacentes a esta doença. O déficit de fósforo vai estimular a síntese de calcitriol que, por sua vez, vai aumentar a absorção de fósforo ao nível do jejuno. Contudo, o principal regulador do balanço de fósforo no organismo são os rins que, perante um déficit deste mineral, promovem a sua reabsorção tubular e assim a sua menor excreção urinária. (4,11)

Em algumas crianças, é o déficit de cálcio quem condiciona o aparecimento da doença. Esta hipocalcémia está associada a um estado de hiperparatireoidismo secundário, com excesso de produção e de secreção de PTH e grande perda urinária de fósforo. (4,11)

São muito poucos os casos em que a osteopenia da prematuridade é secundária a um déficit de vitamina D, já que os intestinos ainda são imaturos e a maioria da absorção intestinal de cálcio e de fósforo em bebês prematuros ocorre passivamente, sem requerer transporte ativo dependente da vitamina D. Como esta não é a causa primária na maioria dos casos, a suplementação provisória e isolada de vitamina D não parece reduzir a incidência da osteopenia da prematuridade. (3,13,17)

Em qualquer uma das situações, a mineralização óssea será reduzida e irá ocorrer a reabsorção do esqueleto em desenvolvimento para assegurar as concentrações séricas de minerais. Ora, tudo isto num momento de rápido crescimento neonatal levará ao desenvolvimento da osteopenia da prematuridade. (3)

FATORES DE RISCO

Existem vários fatores que aumentam o risco de desenvolvimento desta doença, nomeadamente:

Pré-natais:

- Insuficiência placentária manifestada, por exemplo, por pré-eclampsia, restrição do crescimento fetal ou a corioamnionite, que afetam a transferência de minerais da mãe para o feto. (1,13,16)
- Genéticos: o desenvolvimento desta doença pode estar associado a polimorfismos genéticos, sendo que os genes candidatos associados à osteoporose dos adultos têm sido avaliados na doença óssea em crianças com muito baixo peso à nascença. Atualmente sabe-se que o género masculino e variantes alélicas homozigóticas com inúmeras repetições de timina-adenina no gene dos recetores de estrogénio constituem fatores de risco. (13)

Natais:

- Peso < 1500 g (4,8,12,16)
- Tempo de gestação < 28 semanas. Quanto menor a idade gestacional, maior o risco de osteopenia da prematuridade. Este fator está relacionado com a perda do pico de transferência de minerais da mãe para o feto que ocorre no 3º trimestre de gestação, mas também com a perda da estimulação mecânica por movimentos fetais contra a parede uterina. Estes movimentos ajudam a assegurar o desenvolvimento muscular adequado, o conteúdo mineral ósseo apropriado e estimulam a formação de osso. Assim, na ausência de estimulação, temos uma reabsorção óssea aumentada com uma diminuição da massa óssea. (1,4,8,9,13,16,18)

Pós-natais:

- Nutrição parentérica total prolongada > 4 semanas. Embora esta intervenção permita um crescimento extrauterino estável, não proporciona quantidades suficientes de cálcio e de fósforo para uma mineralização óssea normal. (4,5,8,9,11,13,14,16–19) É ainda de salientar que, durante o processo de

esterilização dos frascos de vidro, é comum a contaminação deste tipo de nutrição com alumínio, que também contribui, de certa forma, para o desenvolvimento da doença. (7,14)

- Restrição de fluidos < 150 mL/Kg/dia (5,8,13)
- Problemas com a alimentação entérica como falência em tolerar fórmulas ou leite humano fortificados com alto conteúdo mineral. Por exemplo, crianças com enterocolite necrotizante, ressecção intestinal ou intolerância alimentar muitas vezes não toleram alimentações entéricas adequadas. (5,8,11,13–16)
- Défice de vitamina D, por aporte inadequado ou má-absorção intestinal. (13)
- Imobilização, especialmente por períodos prolongados de sedação durante ventilação mecânica, por paralisia ou doença neurológica, pode aumentar a perda de cálcio e a desmineralização óssea por desuso. (4,10,13,15,16)
- Fármacos como anticonvulsivantes, diuréticos de ansa, metilxantinas e glucocorticoides. A fenitoína e o fenobarbital são anticonvulsivantes que podem inibir indiretamente a absorção de cálcio ao interferir com o metabolismo da vitamina D. A furosemida é um diurético de ansa muito usado nos bebês prematuros para o tratamento da displasia broncopulmonar. Sabe-se que aumenta a excreção renal de cálcio, podendo causar hipercalcúria e nefrocalcinose, mas sem um claro efeito no crescimento e na homeostase mineral. Em contraste, os diuréticos tiazídicos estimulam a absorção de cálcio e reduzem a excreção urinária do mesmo. As metilxantinas (de que são exemplo a cafeína e a teofilina) são usadas para o tratamento da apneia. De facto, estudos têm mostrado que a cafeína afeta de forma adversa a absorção intestinal de cálcio e estimula a sua excreção urinária. Já os glucocorticoides sistêmicos têm efeitos supressivos na formação de osso, podendo afetar negativamente o crescimento linear, uma vez que promovem a morte celular de osteoblastos e osteócitos e a diferenciação de osteoclastos. Há uma boa evidência de que os glucocorticoides orais, principalmente quando usados por mais do que 3 meses e em doses superiores a 5-7,5mg/dia, aumentam o risco de fraturas. (4,5,8,10,13–17,20)
- Comorbilidades: um fator importante do metabolismo ósseo é a saúde neonatal global. Assim, tal como seria de esperar, as crianças com osteopenia da prematuridade grave são normalmente crianças mais doentes e com um maior

número de comorbilidades como, por exemplo, perfuração intestinal espontânea, leucomalácia periventricular, hemorragia intraventricular, retinopatia da prematuridade, canal arterial patente, convulsões, doença renal, sepsis severa ou doença hepática. De salientar que a colestase (secundária a doença hepática ou a nutrição parentérica total prolongada) tem sido considerada como um fator de risco para a diminuição da densidade mineral óssea e para fraturas, por dois mecanismos possíveis: pela diminuição da absorção intestinal de vitamina D, que é uma vitamina lipossolúvel, ou pelo possível efeito negativo da bilirrubina e ácidos biliares na função dos osteoblastos. (7,8,14,16–19,21)

DIAGNÓSTICO

Atualmente, o diagnóstico da osteopenia da prematuridade baseia-se essencialmente em avaliações bioquímicas e imagiológicas, não existindo nenhuma recomendação universal para tal. A escolha de quem rastrear é baseada nos fatores de risco. Os achados bioquímicos (hipofosfatemia e hiperfosfatemia) não fazem o diagnóstico só por si, mas são sugestivos da doença. O diagnóstico é posteriormente confirmado por achados imagiológicos (em radiografias do punho e/ou joelho). (4,7–9,17,22)

De seguida, abordam-se vários possíveis métodos de diagnóstico, uns mais úteis do que outros, uma vez que a eficácia diagnóstica pode aumentar se tivermos em conta um algoritmo mais complexo e abrangente baseado em características clínicas, bioquímicas, hormonais e imagiológicas. (9)

Clínico

A existência de sintomas clínicos da osteopenia da prematuridade é muito variável. Enquanto nalguns casos não se observam sintomas, outros casos podem apresentar-se com doença óssea severa manifestada por fraturas, com dor e diminuição do movimento associados. (19) Na verdade, esta doença não é normalmente aparente em termos clínicos, mas podem surgir situações extremas em que a hipocalcemia se manifesta com tetania, arritmias ou convulsões, e a desmineralização óssea com

achados típicos de raquitismo: rosário raquítico e craniotabes (ossos do crânio mais finos e moles). (3,6,8,9)

Bioquímico

A avaliação bioquímica permite prever o estado de mineralização óssea e a necessidade de avaliação imagiológica posterior em crianças prematuras, contudo tem uma fraca correlação com o grau de desmineralização. (1,12) As medições bioquímicas possíveis incluem o cálcio e o fósforo séricos e urinários, a fosfatase alcalina e outros marcadores de formação e reabsorção ósseas. (9,13)

Cálcio sérico e urinário

No decurso da doença, as concentrações de cálcio, quer séricas quer urinárias, mantêm-se tipicamente dentro dos limites considerados normais, podendo até estar aumentadas, graças ao estado de hiperparatireoidismo compensatório invocado. Deste modo, compreende-se que estes parâmetros não têm valor no rastreio e diagnóstico da osteopenia da prematuridade. (10,12,13,16,19)

Fósforo sérico e urinário

O aumento da PTH promovido pela hipocalcemia pós-natal vai estimular a excreção urinária de fósforo. Assim, torna-se evidente a utilidade de medir as concentrações urinárias deste mineral como uma análise complementar de rastreio da osteopenia da prematuridade. (1) Inicialmente, e logo após o nascimento, a excreção urinária de fósforo é reduzida devido às baixas concentrações de PTH, ao reduzido fluxo sanguíneo renal e à diminuída taxa de filtração glomerular. Subsequentemente vai havendo um aumento progressivo da resposta fosfatúrica à PTH, com grandes quantidades de fósforo a serem excretadas no rim. (3) Esta hiperfosfatúria irá levar à hipofosfatemia que é a manifestação mais precoce da disrupção do metabolismo mineral. (4,10) Valores séricos de fósforo inferiores a 2 mmol/L constituem um importante fator de risco de osteopenia, e níveis inferiores a 1.8 mmol/L parecem estar relacionados com achados radiológicos positivos. (12,19) Estes baixos níveis séricos de fósforo vão estimular uma maior reabsorção tubular deste mineral e consequentemente uma menor excreção urinária. A média normal de reabsorção tubular de fósforo é de 78-

91% e um valor acima de 95% é um marcador significativo de insuficiência deste mineral. A utilização isolada da reabsorção tubular de fósforo no diagnóstico da osteopenia da prematuridade foi considerada inapropriada, pela sua baixa sensibilidade e especificidade. (15)

Crianças prematuras, sobretudo aquelas com muito baixo peso à nascença, têm comumente limiares mais baixos de excreção de fósforo quando comparadas com crianças de termo, ou seja, necessitam de uma redução sérica ainda maior deste mineral para que haja a mesma taxa de reabsorção tubular. Como consequência, irão ter baixas taxas de reabsorção tubular e uma grande excreção urinária de fósforo, independentemente da existência de níveis séricos baixos. (1,13,15)

Fosfatase alcalina (FA)

É uma enzima que se encontra na membrana dos osteoblastos, sendo considerada um marcador de remodelação óssea. (12,17) Os seus níveis séricos aumentam normalmente durante as 3 primeiras semanas de vida para valores duas a três vezes superiores ao limite máximo de um adulto, seguidamente estabilizam e depois entram num período de declive. Em recém-nascidos que recebem dietas com substrato mineral reduzido e que estão em risco de osteopenia, aumentam ainda mais a partir das 5 ou 6 semanas de vida. (1,4,6,10)

Concentrações elevadas de FA podem ser utilizadas para rastrear a osteopenia da prematuridade, embora não exista um valor constante e consensual a partir do qual possamos assegurar a existência desta doença, já que a evidência é contraditória quanto à sua sensibilidade e especificidade. (1,12,13)

Contudo, a maioria dos estudos refere que a sensibilidade e especificidade diagnósticas aumentam se tivermos em consideração a concentração de fósforo sérico em conjunto com a FA sérica. (4,12,13,15,19) Assim, achados laboratoriais que são sugestivos de osteopenia da prematuridade incluem um nível baixo de fósforo sérico (< 1.1 a 1.3 mmol/L) associado a uma fosfatase alcalina aumentada (> 1000UI/L). (8)

É indispensável compreendermos que a FA que circula no sangue é a soma de três isoformas: a do fígado, a dos intestinos e a do osso, com a isoforma óssea a contribuir cerca de 90%. Portanto, existem outras patologias (como a disfunção hepática) que podem causar flutuações nos níveis séricos desta enzima (4,21,22) Desta forma, é importante começarmos por excluir estas condições (avaliando por exemplo a

albumina e a bilirrubina para excluir disfunção hepática) antes de considerarmos os níveis de FA como indicadores de osteopenia da prematuridade. (12)

Outros marcadores de formação e reabsorção ósseas

A avaliação destes marcadores constitui um avanço metodológico importante no diagnóstico da osteopenia da prematuridade, mas ainda a necessitar de investigação adicional. Marcadores de formação óssea incluem produtos da síntese de colagénio tipo I, a osteocalcina e a, já abordada, fosfatase alcalina óssea. Marcadores de reabsorção óssea compreendem principalmente produtos da degradação do colagénio tipo I. De entre estes todos, a osteocalcina tem sido a mais estudada e a que se considera possivelmente como o melhor preditor de doença óssea metabólica. (9)

Hormonal

PTH e PTHrP

Alguns estudos sugerem que os níveis séricos da PTH podem ser usados como marcador de osteopenia da prematuridade severa. (4,8,17) No entanto, neste momento, tal teste iria adicionar custos consideráveis às avaliações de rotina, sem que haja evidência de claro benefício. Como resultado, não se recomenda usar os níveis de PTH para diagnosticar pacientes em risco de doença óssea metabólica. (8,19)

Uma vez que o PTHrP tem uma semi-vida curta e as medições exatas dependem criticamente do processamento correto da amostra, também não é avaliado por rotina na prática clínica. (7)

Vitamina D

A avaliação de rotina da vitamina D, que não é uma verdadeira hormona, mas se comporta como tal, também não está recomendada para o rastreio e diagnóstico da osteopenia da prematuridade. (19)

Existem contudo algumas situações em que se torna importante a sua avaliação em prematuros, nomeadamente: casos de deficiência materna de vitamina D conhecida, síndrome do intestino curto, colestase, outras condições que possam ter impacto na sua absorção, doença renal, terapêutica com anticonvulsivantes (como o fenobarbital) já que estes podem aumentar o catabolismo da vitamina D e crianças que estejam em risco de desenvolver intoxicação por suplementação com vitamina D. Nestas situações devemos

optar por medir a 25(OH) vitamina D ao invés da 1,25(OH)₂ vitamina D, uma vez que os níveis desta última têm uma menor correlação com o estado de vitamina D, podendo ser normais até que ocorram profundas depleções. (4,5,16,23)

Imagiológico

Dentro dos métodos imagiológicos incluem-se a radiografia convencional, a absorciometria de dupla energia radiológica (DEXA), a ultrassonografia quantitativa e a tomografia computadorizada quantitativa. (15) Estes métodos têm como objetivo avaliar e medir a quantidade total de material ósseo, bem como o seu grau de mineralização. (10)

Radiografia convencional

Este método apresenta algumas desvantagens, tais como: a utilização de radiação ionizante, a avaliação pouco precisa da desmineralização óssea e a baixa sensibilidade, já que é necessária uma redução de 30% ou mais da densidade mineral óssea para que a osteopenia seja diagnosticada por este método. (1,4,9,13,16,22)

Contudo, uma radiografia do pulso e/ou joelhos às 4 semanas de vida (ou depois) numa criança de alto risco com achados laboratoriais anormais continua a ser uma avaliação prática para confirmar o diagnóstico de osteopenia evidente. (8,13) As radiografias do tórax que revelem anomalias nas costelas são meramente sugestivas e não diagnósticas. (5)

Os achados radiográficos possíveis são, numa fase inicial, perda da linha branca densa da metáfise, aumento da luminosidade sub-metáfisária e diminuição da espessura cortical. Posteriormente, podem visualizar-se irregularidades e desgaste das metáfises, com alargamento característico da placa epifisária e, em fases mais avançadas, podem existir fraturas (essencialmente das costelas e dos ossos longos). (1,2,8,10,11,13,16)

Absorciometria de dupla energia radiológica (DEXA)

Esta técnica veio substituir a absorciometria de um único fotão, cujo uso remonta aos anos 90. Com base na absorção diferencial de raios-x por diferentes tecidos, permite determinar a massa óssea e a quantidade mineral óssea de uma só região ou de todo o corpo. Não dá qualquer indicação da espessura cortical, o que seria relevante quando se considera o risco de fratura, particularmente depois da alta. (10)

É considerada a técnica *gold-standard* para avaliar a mineralização óssea em prematuros, sendo mais sensível, precisa e exata que a radiografia convencional, e utiliza menores doses de radiação. (9,13,21,22)

No entanto, existem algumas limitações à sua utilização generalizada, tais como a baixa disponibilidade, o custo relativamente elevado, a existência de valores de referência limitados para prematuros e a dificuldade de interpretação devido aos artefactos do movimento. Para além disto, o equipamento DEXA não é portátil e, por isso, fazer um scan requer o transporte da criança, o que pode não ser exequível em crianças muito pequenas e instáveis. (1,9,13,15,21,22)

Ultrassonografia quantitativa

É uma técnica de baixo custo, portátil, não ionizante e, no geral, bem tolerada. Tem por objetivo medir parâmetros como a velocidade de propagação dos ultrassons através do osso e o tempo que a onda demora a atravessá-lo, uma vez que estes irão refletir, de certa forma, o estado da saúde óssea. Sabe-se que, perante um aumento da densidade e resistência ósseas, a velocidade do som aumenta e o tempo de transmissão óssea diminui. (22)

É um método que tem potencial como ferramenta de rastreio inicial da osteopenia da prematuridade, mas também de seguimento da doença para avaliação da eficácia do tratamento. No entanto, a sua utilização em recém-nascidos tem sido limitada a estudos de amostras pequenas e os dados não têm sido consistentes, sendo por isso necessários mais estudos para avaliar a eficácia e a reprodutibilidade das variáveis desta técnica antes de alargar o seu uso clínico nas unidades neonatais. (22)

Tomografia computadorizada quantitativa

Para além de utilizar radiação ionizante, é uma técnica insuficientemente precisa para se usar em crianças. (10)

PREVENÇÃO

É essencial a prevenção da osteopenia da prematuridade, proporcionando o aporte de cálcio e de fósforo adequado para promover o crescimento ósseo normal. (8,10) Para tal, devemos ter em conta a perda de acreção óssea intrauterina pelos bebés

prematturos, a biodisponibilidade dos nutrientes nos prematturos alimentados por via entérica e as contínuas perdas desses nutrientes. (8)

O que fazer em meio intra-hospitalar?

NUTRIÇÃO PARENTÉRICA

Embora esta intervenção permita um crescimento extrauterino estável, não proporciona as quantidades necessárias de cálcio e de fósforo para uma mineralização óssea normal. (17) Está provado que a deposição mineral é inadequada nas crianças <1500g de peso à nascença que são tratadas com nutrição parentérica por mais do que duas semanas. Isto relaciona-se em parte com a necessidade que existe de limitar as concentrações minerais por causa da sua solubilidade nas soluções de nutrição parentérica. Contudo, as concentrações de cálcio e de fósforo devem ser maximizadas para melhorar a retenção mineral. Para crianças que recebem nutrição parentérica por mais do que 4 semanas, a suplementação oral subsequente é geralmente necessária uma vez estabelecida a via entérica. (4,8,13)

NUTRIÇÃO ENTÉRICA

Os dados são limitados na determinação da quantidade exata de cálcio e de fósforo necessários na dieta para alcançar a acreção intrauterina destes dois nutrientes, por isso, as normas de orientação clínica variam no que respeita aos aportes recomendados de tais nutrientes em crianças pré-termo alimentadas entericamente. (8)

Nos EUA, o aporte recomendado para crianças de muito baixo peso à nascença (inferior a 1500g) é o seguinte: (7,8)

- Cálcio: 150 a 220 mg/Kg/dia
- Fósforo: 75 a 140 mg/Kg/dia

As *guidelines* europeias recomendam o seguinte aporte em crianças de muito baixo peso à nascença: (8,23)

- Cálcio: 120 a 140 mg/Kg/dia
- Fósforo: 65 a 90 mg/Kg/dia

As *guidelines* para crianças com muito baixo à nascença criadas por um grupo de consenso internacional constituído por elementos americanos, europeus, australianos, israelitas, africanos, entre outros, recomendam o seguinte aporte: (8)

- Cálcio: 120 a 200 mg/Kg/dia
- Fósforo: 60 a 140 mg/Kg/dia

Embora não tenha sido claramente identificada razão ideal entre cálcio:fósforo, pensa-se que uma razão ótima para crianças pré-termo seja entre 1.5 e 1.7, numa base de mg para mg. (5,8)

As *guidelines* atuais, quer europeias quer americanas, recomendam igualmente a suplementação com vitamina D, já que os níveis desta vitamina são baixos em prematuros porque tiveram menos tempo para acumulá-la através do transporte transplacentário. (8) Nos EUA, a dose diária recomendada em bebés de muito baixo peso à nascença varia entre 200 e 400UI, e aumenta para 400UI quando o bebé alcança um peso de 1500g e tolera a nutrição entérica completa. Na Europa, as *guidelines* sugerem um aporte maior de 800 a 1000UI/dia durante o internamento e nos primeiros meses de vida. (5,7,8,13,23) Já o grupo de consenso internacional recomenda um aporte de vitamina D entre 400 e 1000UI/dia, sugerindo que um espectro alargado de valores é possivelmente seguro e benéfico. (8)

O leite humano não fortificado e as fórmulas para bebés de termo não contêm quantidade suficiente de cálcio e de fósforo para alcançar a mineralização óssea normal em prematuros. (1,4,5,7,8,13,23) Como resultado, a nutrição entérica para todas as crianças com peso à nascença inferior a 1800g-2000g deve ser feita por leite humano fortificado ou por fórmulas para prematuros, as quais têm conteúdo mineral mais elevado. Estas recomendações estão baseadas no peso e não na idade gestacional, uma vez que o conteúdo mineral ósseo é também reduzido em crianças com baixo peso para a idade gestacional. (5,7,8) Nos bebés com <1500g à nascença, a alimentação entérica completa de 160mL/kg/dia de leite humano fortificado ou fórmula para prematuros fornece aportes estimados de cálcio de 180 a 220 mg/Kg/dia, de fósforo de 100 a 125 mg/Kg/dia e de vitamina D de 300 a 400UI/dia, o que vai de encontro às necessidades destes recém-nascidos e reduz o risco de osteopenia. (5,8)

A transição posterior destes produtos dietéticos com alto conteúdo mineral para fontes de nutrição com menor conteúdo deve começar quando o bebé alcança o peso corporal de 2000g. Tal pode ser conseguido diminuindo a fortificação do leite humano ou mudando da fórmula pré-termo para fórmulas de transição. Contudo, esta mudança deve ser adiada em bebés que têm fatores de risco adicionais para osteopenia da prematuridade ou naqueles que têm valores séricos de FA persistentemente acima de 800UI/L. (7,8)

FISIOTERAPIA

A imobilização ou falta de atividade física é um dos fatores de risco da osteopenia da prematuridade. E um pequeno número de estudos com bebês prematuros tem sugerido uma melhoria do conteúdo mineral ósseo com um programa de exercício físico passivo de cerca de 5 a 15 minutos por dia durante 3 a 8 semanas. Contudo, os dados são insuficientes para determinar se a atividade física de rotina estruturada diminui a incidência de osteopenia e de fraturas. Ainda assim, hoje em dia existem vários hospitais que têm fisioterapeutas a trabalhar com prematuros regularmente, embora estes esforços não estejam especificamente direcionados para a saúde óssea. Esta opção terapêutica requer mais investigação clínica antes de ser universalmente recomendada na prática de rotina. (4,5,8)

MONITORIZAÇÃO

Ao longo do internamento, deve ser realizada uma avaliação laboratorial de rotina de fósforo sérico e FA em todas as crianças com peso à nascença inferior a 1500g. Uma vez que os valores anormais são incomuns nas primeiras 4 semanas de vida, a avaliação inicial deve começar às 4 semanas depois do nascimento com testes quinzenais subsequentes. Crianças com fatores de risco adicionais para osteopenia devem ser testadas semanalmente. Em caso de valores de fósforo sérico persistentemente inferiores a 1.3 mmol/L deve-se considerar aumentar a suplementação deste mineral. Se a FA for superior a 800-1000UI/L deve-se maximizar o aporte de cálcio e fósforo e procurar minimizar os fatores de risco. Uma vez demonstrados valores estabilizados em crianças alimentadas totalmente por via entérica (por exemplo, se a FA sérica já teve o seu pico e agora é inferior a cerca de 500UI/L), a monitorização pode ser descontinuada. (5,8,13)

Quando dar alta hospitalar?

O momento da alta é dependente do estado clínico, com a maioria das crianças com muito e extremo baixo peso à nascença a terem alta para casa entre as 36 e 40 semanas de idade pós-menstrual. (4)

O que fazer depois da alta hospitalar?

Nas crianças alimentadas por fórmula, a monitorização deixa de ser necessária, exceto se a FA for superior a 800UI/L no momento da alta, o que é incomum. (5,8)

Nas crianças de muito baixo peso à nascença e com amamentação exclusiva, embora haja escassez de dados relativos ao manuseamento da sua saúde óssea, considera-se uma abordagem razoável obter os níveis de FA 2 a 4 semanas depois da alta. Se a FA for superior a 800UI/L, a monitorização subsequente é recomendada com testes mensais até os valores serem inferiores a 600UI/L. Se a FA for superior a 1000UI/L e os valores séricos de fósforo forem baixos, a suplementação mineral deve ser considerada. Neste caso, os suplementos minerais poderão ser administrados por diversos métodos, embora nenhum estudo tenha avaliado as diferentes abordagens. Uma opção consiste em substituir 1 a 3 mamadas por dia de leite humano por uma fórmula com alto conteúdo mineral (pré-termo ou de transição). Outra opção consiste em fortificar o leite humano, o qual é dado por biberão. Como alternativa, e raramente, poderão ser necessários suplementos de cálcio e de fósforo elementares, sendo comumente utilizadas as formulações de glubionato de cálcio ou carbonato de cálcio (começando com a dose diária de cálcio elementar suplementar de 20mg/Kg/dia aumentada, enquanto tolerada, até à dose máxima de 70 a 80mg/Kg/dia) e as formulações de fosfato de sódio ou fosfato de potássio (começando com a dose diária de fósforo elementar de 10 a 20 mg/Kg/dia aumentada, enquanto tolerada, até à dose máxima de 40 a 50mg/Kg/dia). (4,5,8,23)

A suplementação com 400UI/dia de vitamina D deve ser continuada em crianças com amamentação exclusiva. E as crianças que são parcial ou totalmente alimentadas por fórmulas também devem receber 400UI/dia de vitamina D. (8) De acordo com o Consenso Nacional de Vitaminas, Minerais e Oligoelementos, deve garantir-se o suprimento de 800-1000UI/dia de vitamina D após a alta hospitalar de recém-nascidos pré-termo até às 40 semanas de idade pós-menstrual e posteriormente passar à dose recomendada no lactente nascido de termo, ou seja, 400UI/dia. (23)

TRATAMENTO

A estratégia de tratamento é semelhante à estratégia de prevenção primária e secundária: maximizar o aporte nutricional especialmente de cálcio, fósforo e vitamina D e minimizar os fatores que levam a perda mineral (ex: uso de glucocorticoides). (5,13)

Em caso de fratura opta-se por uma abordagem conservadora, ao invés da intervenção cirúrgica. (8) E fazem-se radiografias de revisão a cada 5-6 semanas de intervalo até resolver. (13)

O tratamento com bifosfonatos tem sido cada vez mais utilizado em pacientes pediátricos para um número crescente de doenças associadas à osteoporose, tendo-se demonstrado bem tolerado e seguro. No entanto, o risco de potenciais consequências severas na vida adulta permanece desconhecido, os critérios bem definidos para a sua utilização em crianças não estão especificados e não existe consenso no que respeita ao bifosfonato preferível, à sua dosagem e à duração da terapêutica. Assim, a sua utilização permanece controversa, sendo necessários mais estudos que comprovem a eficácia e segurança a longo prazo, essencialmente no que diz respeito à osteopenia da prematuridade. (20)

PROGNÓSTICO

A osteopenia da prematuridade parece ser uma doença autolimitada, com uma recuperação espontânea do crescimento e da densidade mineral óssea a ocorrer, na maioria dos casos, por volta dos 6 meses de idade corrigida. No entanto, este facto não torna aceitável a existência de um período de desmineralização óssea. (1,6,13,22)

Existe evidência de que esta doença está associada a uma diminuição do potencial de crescimento linear, mesmo depois de corrigidas as alterações bioquímicas e radiográficas. (6,12,17) Pode ainda ser causa de fraturas, que são geralmente múltiplas, muito frequentes nas costelas e tipicamente detetadas por volta das 10 a 14 semanas de idade cronológica. (8,10,22) A incidência de fraturas parece, ainda assim, ser subestimada, uma vez que a maioria é assintomática e incidentalmente diagnosticada em recém-nascidos prematuros. (1,24) A curto prazo pode ainda prejudicar a função respiratória (por caixa torácica anormal e restrição da expansão pulmonar) e constituir um fator para o desenvolvimento de miopia da prematuridade associada a um défice de crescimento dos ossos do crânio. (13,16,22)

As potenciais consequências a longo prazo ainda não são claramente conhecidas. (1,6,13) Há quem defenda que, na adolescência, os ex-prematuros osteopenicos tendem a ser mais pequenos e mais leves para a sua idade, e o pico de massa óssea possa vir a ser mais baixo durante a vida adulta. (10,13,22) No entanto, estas correlações não são

assim tão claras, consensuais e evidentes, havendo, por isso, a necessidade de mais investigação de longo prazo para explorarmos o prognóstico em termos de crescimento e massa óssea. (9,16)

CONCLUSÃO

A saúde óssea é uma preocupação fundamental no recém-nascido, especialmente nos que são prematuros pois estão em risco de desenvolver osteopenia. No entanto, esta é uma condição que não afeta só prematuros, mas também recém-nascidos de muito baixo peso à nascença (< 1500g).

Avaliações laboratoriais com evidência de hipofosfatemia (fósforo sérico < 1.1 a 1.3 mmol/L) e hiperfosfatásia (FA > 1000UI/L) sugerem o diagnóstico de osteopenia da prematuridade que depois é confirmado através de radiografias do punho e/ou do joelho.

A avaliação inicial deve ser feita às 4 semanas depois do nascimento em todas as crianças com peso à nascença inferior a 1500g. Durante o internamento, a monitorização destas crianças deve ser feita quinzenalmente, avaliando a FA e o fósforo séricos, até que os valores estabilizem em crianças alimentadas totalmente por via entérica. Após a alta hospitalar, a monitorização das crianças alimentadas por fórmula deixa de ser necessária na maioria dos casos. Já as crianças com amamentação exclusiva devem ser reavaliadas 2 a 4 semanas depois da alta. A monitorização subsequente destas crianças é recomendada com testes mensais até que os valores de FA sejam inferiores a 600UI/L.

Esta é uma doença autolimitada com consequências a curto e a longo prazo que devem ser evitadas. Para tal, a prevenção é essencial, proporcionando o aporte adequado de cálcio, fósforo e vitamina D. O leite humano não fortificado, as fórmulas de termo e a nutrição parentérica não contêm quantidade suficiente de cálcio e de fósforo para alcançar a mineralização óssea normal. Assim, é importante fortificar o leite humano ou usar fórmulas para prematuros.

Ainda existem lacunas no conhecimento da osteopenia da prematuridade e falta de consenso universal, nomeadamente no que diz respeito a alguns métodos de rastreio e diagnóstico, à utilização da fisioterapia como prevenção, ao uso de bifosfonatos como

tratamento e às consequências a longo prazo. Destarte, são necessários mais estudos de investigação que gerem evidência e venham dar consistência à prática clínica nesta área.

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar e acima de tudo, por todos os dons e talentos concedidos, pelas bênçãos diárias e por ser a Luz que me guia.

À Dra. Margarida Abrantes, por ter embarcado comigo neste desafio, pela sua disponibilidade, dedicação, orientação, compreensão e incentivo.

À FMUL por ter sido a minha segunda casa durante os últimos seis anos e por me ter dado as ferramentas necessárias para construir o meu futuro profissional.

Aos meus adorados pais, pelo amor incondicional, infinito e inexplicável, por todos os valores que me transmitem e por tudo o que fazem para me ver feliz.

Ao John, por toda a paciência, carinho e motivação.

À minha família, pelos mimos, força e apoio que me ajudaram a superar os obstáculos que foram surgindo.

Aos meus amigos, por me terem acompanhado ao longo deste percurso, por completarem o meu mundo e o tornarem mais feliz.

“Deus quer, o homem sonha e a obra nasce.” Fernando Pessoa

BIBLIOGRAFIA

1. Kelly A, Kovatch KJ, Garber SJ. Metabolic Bone Disease Screening Practices Among U. S. Neonatologists. *Clin Pediatr*. 2014;53:1077–83.
2. Ali E, Rockman-Greenberg C, Moffatt M, Narvey M, Reed M, Jiang D. Caffeine is a risk factor for osteopenia of prematurity in preterm infants: a cohort study. *BMC Pediatr*. 2018;18:9.
3. Kovacs CS. Calcium, phosphorus, and bone metabolism in the fetus and newborn. *Early Hum Dev*. 2015;91:623–8.
4. Rustico SE, Calabria AC, Garber SJ. Metabolic bone disease of prematurity. *J Clin Transl Endocrinol*. 2014;1:85–91.
5. Abrams SA and C on N. Calcium and Vitamin D Requirements of Enterally Fed Preterm Infants. *Am Acad Pediatr*. 2013;131:e1676–83.
6. Isojima T, Kushima R, Goishi K, Tsuchida S, Watanabe T, Takahashi N, et al. Mineral status of premature infants in early life and linear growth at age 3. *Pediatr Int*. 2015;57:864–9.
7. Karpen HE. Mineral Homeostasis and Effects on Bone Mineralization in the Preterm Neonate. *Clin Perinatol*. 2018;45(1):129–41.
8. Abrams S. Management of neonatal bone health. UpToDate. 2018; Available from: <http://www.uptodate.com>
9. Czech-Kowalska J, Czekuc-Kryskiewicz E, Pludowski P, Zaniuk K, Jaworski M, Łuba A, et al. The Clinical and Biochemical Predictors of Bone Mass in Preterm Infants. *PLoS One*. 2016;11(11):e0165727.
10. Bishop N. Metabolic bone disease. In: Rennie JM, editor. *Rennie & Robertson's Textbook of Neonatology*. 5th ed. Elsevier Health Sciences; 2012. p. 920–6.
11. Rustico SE, Kelly A, Monk HM, Calabria AC. Calcitriol treatment in metabolic bone disease of prematurity with elevated parathyroid hormone: A preliminary study. *J Clin Transl Endocrinol*. 2015;2:14–20.

12. Abdallah EA, Said RN, Mosallam DS, Moawad EM, Kamal NM, Fathallah MG. Serial serum alkaline phosphatase as an early biomarker for osteopenia of prematurity. 2016;95(37):e4837.
13. Martin R, Fanaroff A, Walsh M. Osteopenia of Prematurity. In: Fanaroff & Martin's Neonatal-Perinatal Medicine: Diseases of the Fetus and Infant - Vol 2. 10th ed. Elsevier Health Sciences; 2015. p. 1485–9.
14. Ukarapong S, Venkatarayappa SKB, Navarrete C, Berkovitz G. Risk factors of metabolic bone disease of prematurity. *Early Hum Dev.* 2017;112:29–34.
15. Acar DB, Kavuncuoğlu S, Çetinkaya M, Petmezci E, Dursun M, Korkmaz O, et al. Assessment of the place of tubular reabsorption of phosphorus in the diagnosis of osteopenia of prematurity. *Turkish Arch Pediatr.* 2015;50:45–50.
16. Chin LK, Doan J, Teoh YSL, Stewart A, Forrest P, Simm PJ. Outcomes of standardised approach to metabolic bone disease of prematurity. *J Paediatr Child Health.* 2018;54:665–70.
17. Moreira A, Swischuk L, Malloy M, Mudd D, Blanco C, Geary C. Parathyroid hormone as a marker for metabolic bone disease of prematurity. *J Perinatol.* 2014;34:787–91.
18. Lucas-Herald A, Butler S, Mactier H, McDevitt H, Young D, Ahmed SF. Prevalence and Characteristics of Rib Fractures in Ex-preterm Infants. *Am Acad Pediatr.* 2012;130(6):1116–9.
19. Mutlu GY, Kırmızıbekmez H, Özsu E, Er İ, Hatun Ş. Metabolic Bone Disease of Prematurity: Report of Four Cases. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2014;6:111–5.
20. Baroncelli GI, Bertelloni S. The Use of Bisphosphonates in Pediatrics. *Horm Res Paediatr.* 2014;82:290–302.
21. Lee J, Park H-K, Kim JH, Choi YY, Lee HJ. Bone Mineral Density According to Dual Energy X-ray Absorptiometry is Associated with Serial Serum Alkaline Phosphatase Level in Extremely Low Birth Weight Infants at Discharge. *Pediatr Neonatol.* 2017;58:251–7.
22. Tong L, Gopal-Kothandapani JS, Offiah AC. Feasibility of quantitative

- ultrasonography for the detection of metabolic bone disease in preterm infants — systematic review. *Pediatr Radiol*. 2018;48:1537–49.
23. Soares E, Pereira-da-Silva L, Cardoso M, Castro MJ. Vitaminas , Minerais e Oligoelementos por Via Entérica no Recém-Nascido. Revisão do Consenso Nacional. *Acta Pediátrica Port*. 2015;46:159–69.
24. Machado Â, Rocha G, Silva AI, Alegrete N, Guimarães H. Bone Fractures in a Neonatal Intensive Care Unit. *Acta Med Port*. 2015;28:204–8.